ホスラブコナゾール Ｌ - リシンエタノール付加物
ネイリンカプセル１００ｍｇ

ＣＴＤ
第２部（モジュール２）：
ＣＴＤの概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

佐藤製薬株式会社

目　次

表一覧 4
略号一覧表 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.1.1 In vitro 抗真菌活性 9
2.4.2.1.2 作用機序 10
2.4.2.1.3 In vivo 抗真菌活性 10
2.4.2.2 副次的薬理試験 10
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.3.1 各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター、及び酵素に対する作用 10
2.4.2.3.2 中枢系に及ぼす影響 10
2.4.2.3.3 心血管系に及ぼす影響 10
2.4.2.3.4 呼吸系に及ぼす影響 11
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 11
2.4.3 薬物動態試験 11
2.4.3.1 分析法 11
2.4.3.2 吸収 11
2.4.3.3 分布 12
2.4.3.4 代謝 13
2.4.3.5 排泄 13
2.4.3.6 薬物動態学的相互作用 13
2.4.3.7 その他の薬物動態試験 13
2.4.4 毒性試験 14
2.4.4.1 単回投与毒性試験 14
2.4.4.2 反復投与毒性試験 14
2.4.4.2.1 ラットを用いた反復投与毒性試験 14
2.4.4.2.2 サルを用いた反復投与毒性試験 15
2.4.4.3 遺伝毒性試験 16
2.4.4.4 がん原性試験 16
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 16
2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 17
2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 17
2.4.4.6 局所刺激性試験 18
2.4.4.7 その他の毒性試験 18

2.4.4.7.1 代謝物の毒性.....18
2.4.4.7.2 不純物の毒性.....18
2.4.4.7.3 光毒性試験.....18
2.4.4.7.4 構成成分又は代謝物の毒性試験.....18
2.4.5 総括及び結論.....19
2.4.5.1 薬理試験.....19
2.4.5.2 薬物動態試験.....20
2.4.5.3 毒性試験.....20
2.4.6 参考文献.....23

表一覧

表 2.4.1-1　ラブコナゾール換算係数.....6
表 2.4.2-1　効力を裏付ける試験の概要（in vitro 試験）.....8
表 2.4.2-2　効力を裏付ける試験の概要（in vivo 試験）.....9

略号一覧表

略号	英語	日本語
APD	action potential amplitude	活動電位持続時間
$APD_{50\ (90)}$	APD at 50% (90%) repolarization	50%（90%）再分極時活動電位持続時間
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	area under the plasma concentration - time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the plasma concentration - time curve from time zero to time t	0 時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	area under the plasma concentration - time curve from time zero to infinite time	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CL	total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	maximum observed plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
F_{oral}	oral bioavailability	経口バイオアベイラビリティ
hERG	human ether-a-go-go related gene	－
HPLC-RAD	high performance liquid chromatography -radioactivity detector	高速液体クロマトグラフィー/放射能検出装置
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
LC/MS/MS	liquid chromatography - tandem mass spectrometer	液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析装置
MATE	multidrug and toxin extrusion	H^+/有機カチオン交換輸送体
MIC	Minimum inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MIC_{90}	90% minimum inhibitory concentration	90%の菌株の発育を阻止する最小薬物濃度
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P-糖タンパク質
PT	prothrombin time	プロトロンビン時間
S-9	9,000 × g supernatant fraction	ホモジネート 9000 × g 上清分画
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
UDS	unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積

2.4.1　非臨床試験計画概略

爪真菌症は、爪甲や爪床に真菌が感染することで引き起こされる疾患である。爪真菌症の原因菌は、皮膚糸状菌や*Candida*属真菌をはじめ、*Scopulariopsis*属、*Acremonium*属、*Aspergillus*属、*Fusarium*属など多くの真菌が知られているが、爪真菌症のうち、原因菌が皮膚糸状菌であるものを爪白癬という。本邦における爪真菌症症例の大部分は爪白癬であり、爪白癬の原因菌の 98%が*Trichophyton rubrum*（81%）及び*Trichophyton mentagrophytes*（17%）の 2 種類で占められている[1),2)]。

2017 年 1 月現在、爪白癬の治療薬として国内で承認されている薬剤は、経口抗真菌剤のテルビナフィン塩酸塩及びイトラコナゾール、また外用爪白癬治療剤のエフィナコナゾール及びルリコナゾールがあるが、内服抗真菌剤は全身性の副作用や薬物相互作用に注意が必要であり、外用抗真菌剤は有効性の面で課題を有していることから、有効性と安全性のバランスの良い製剤の開発が求められている。

本剤の有効成分 BFE1224 の活性本体であるラブコナゾールは、アゾール系抗真菌化合物であり、広範な抗真菌スペクトルを示す[2)]。またシャーガス病（中南米にみられる感染症）の病原体として知られる寄生原虫 *Trypanosoma. cruzi*（クルーズトリパノソーマ）に対しても活性を有する[2)]。ラブコナゾールの薬物特性の改良を行い、プロドラッグである [redacted] [ラブコナゾールホスホノキシメチルプロドラッグ（ホスラブコナゾール）ジリシン塩エタノール付加物] の開発が進められた後、[redacted] にさらに改良を加えてジリシン塩をモノリシン塩とした BFE1224（ホスラブコナゾールモノリシン塩エタノール付加物）の開発が進められた。

BFE1224 の非臨床的特性は、BFE1224 及び活性本体であるラブコナゾールの経口投与による試験を中心に、過去の開発時に実施した [redacted] を用いた経口又は静脈内投与試験も一部引用した。in vivo 試験における BFE1224 又は [redacted] の投与量は、特に説明のない限り、安全性薬理試験及び毒性試験はホスラブコナゾール（遊離酸）量、薬物動態試験では各化合物量として記載した。ラブコナゾールと BFE1224 又は [redacted] の投与量を比較する場合、分子量比を用いて算出したラブコナゾール換算係数（表 2.4.1-1）を用い、各化合物の重量濃度をラブコナゾール換算係数で除した値をラブコナゾール換算値として記載した。

表 2.4.1-1　ラブコナゾール換算係数

化合物		分子量	ラブコナゾール換算係数*
ラブコナゾール	有効成分の活性本体	437.47	1.000
ホスラブコナゾール	有効成分の遊離酸	547.47	1.251
BFE1224	有効成分（ホスラブコナゾールのモノリシン塩エタノール付加物）	739.73	1.691
[redacted]	有効成分の塩違い（ホスラブコナゾールのジリシン塩エタノール付加物）	885.91	2.025

*：ラブコナゾール換算係数＝（各化合物の分子量）／（ラブコナゾールの分子量 437.47）

薬理試験

効力を裏付ける試験のうち in vitro 試験として、ホスラブコナゾール及びラブコナゾールの抗真菌活性及び作用機序を検討した。in vivo 試験は、モルモット *T. mentagrophytes* 皮膚糸状菌症モデ

ル及びマウス *Candida albicans* 全身感染症モデルにおいて、ラブコナゾール又は BFE1224 の作用を検討し、BFE1224 の爪白癬に対する治療効果を予測した。副次的薬理試験として、コレステロール生合成阻害作用を検討した。安全性薬理試験として、各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター、及び酵素に対する作用、また ICH ガイドライン「安全性薬理試験ガイドラインについて」（平成 13 年 6 月 21 日 医薬審発第 902 号）に準拠したコアバッテリー試験を実施した。コアバッテリー試験のうち、in vitro 電気生理学的試験は、ガイドライン発出前に実施したため、非 GLP 試験として実施した。

薬物動態試験

BFE1224 の動物における吸収、分布、代謝、及び排泄について検討し、一部の試験においてはラブコナゾールもしくはホスラブコナゾールを用いて検討した。In vivo では、ラット及びサルに、絶食又は非絶食条件下において投与化合物を経口又は静脈内投与した。また、in vitro においては、ヒトを含む各動物種の血漿タンパク結合及び血球移行性試験、凍結肝細胞を用いた薬物代謝及び薬物代謝酵素誘導試験、ヒト肝ミクロソームを用いた薬物代謝酵素阻害試験、さらにトランスポーターを発現させた細胞又はベシクルを用いた基質認識性並びに阻害試験を実施した。

毒性試験

単回投与毒性試験（ラット及びサル）、反復投与毒性試験（ラット及びサル）、遺伝毒性試験（in vitro 及び in vivo ラット）、生殖発生毒性試験（ラット及びウサギ）、並びにその他の毒性試験として in vitro 光毒性試験及び構成成分又は代謝物の毒性試験（ラット）の結果を用いて評価した。不純物の毒性は、ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験の結果を用いて評価した。また、一部の不純物については、in silico 解析により変異原性を評価した。なお、本剤の用法・用量（案）は、「通常、成人にはラブコナゾールとして 100 mg（本剤 1 カプセル）を 1 日 1 回 12 週間経口投与する。」であり、6 ヵ月を超えて使用しないことから、がん原性試験は実施しなかった。主な毒性試験は、GLP に準拠して実施した。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験とその成績の概要を表 2.4.2-1 及び表 2.4.2-2 に示す。

表 2.4.2-1 効力を裏付ける試験の概要（in vitro 試験）

菌種、株	MIC (μg/mL) 又は試験成績	
	ホスラブコナゾール／ラブコナゾール	対照物質
爪白癬患者由来臨床分離株		
Trichophyton 属 (52 株) [a] (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.06 ホスラブコナゾール [b] 4	イトラコナゾール 0.06 フルコナゾール 4 テルビナフィン 0.03
皮膚真菌症患者由来新鮮臨床分離株		
T. rubrum (51 株) (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.06	イトラコナゾール ≤0.03 テルビナフィン 0.015
T. mentagrophytes (20 株) (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.06	イトラコナゾール ≤0.03 テルビナフィン 0.015
Trichophyton tonsurans (1 株) (MIC)	ラブコナゾール ≤0.03	イトラコナゾール ≤0.03 テルビナフィン 0.015
Microsporum canis (1 株) (MIC)	ラブコナゾール ≤0.03	イトラコナゾール ≤0.03 テルビナフィン 0.015
C. albicans (11 株) (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.06	イトラコナゾール ≤0.03 テルビナフィン >16
その他の *Candida* 属真菌 (7 株) (MIC の範囲)	ラブコナゾール ≤0.03 - 0.25	イトラコナゾール 0.03 - 0.5 テルビナフィン 0.25 - >16
各種病原真菌（保存株）		
Trichophyton 属 (13 株) [c] (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.06	イトラコナゾール 0.13 フルコナゾール 16 アンフォテリシン B 1
Microsporum canis (4 株) (MIC [d])	ラブコナゾール ≤0.008$_3$, 0.03	イトラコナゾール ≤0.008$_3$, 0.06 フルコナゾール 0.5, 4$_3$ アンフォテリシン B 0.13, 0.25, 0.5$_2$
Microsporum gypseum (4 株) (MIC [d])	ラブコナゾール 0.015, 0.03$_2$, 0.06	イトラコナゾール 0.03, 0.06$_3$ フルコナゾール 32$_2$, >64$_2$ アンフォテリシン B 0.5$_2$, 1$_2$
Epidermophyton floccosum (4 株) (MIC [d])	ラブコナゾール 0.015, 0.03$_3$	イトラコナゾール ≤0.008$_2$, 0.015$_2$ フルコナゾール 1, 2$_2$, 4 アンフォテリシン B 0.06$_2$, 0.13$_2$
その他の糸状菌 (31 株) (MIC の範囲)	ラブコナゾール ≤0.008 - >16	イトラコナゾール ≤0.008 - >16 フルコナゾール 2 - 128 アンフォテリシン B 0.06 - 8
黒色真菌 (13 株) (MIC の範囲)	ラブコナゾール 0.015 - 2	イトラコナゾール 0.015 - 0.5 フルコナゾール 8 - >128 アンフォテリシン B 0.13 - 4
二相菌 (3 株) (MIC [d])	ラブコナゾール 1, 2, 4	イトラコナゾール 0.5, 1, 2 フルコナゾール 64, >64$_2$ アンフォテリシン B 1$_3$
接合菌 (3 株) (MIC [d])	ラブコナゾール 1$_2$, 8	イトラコナゾール 0.5, 1, 4 フルコナゾール 64, >64$_2$ アンフォテリシン B 1$_3$
C. albicans (34 株) (MIC$_{90}$)	ラブコナゾール 0.03	イトラコナゾール 0.13 フルコナゾール 1 アンフォテリシン B 0.5
その他の酵母様真菌 (138 株) (MIC の範囲)	ラブコナゾール ≤0.008 - >16	イトラコナゾール ≤0.008 - >16 フルコナゾール ≤0.13 - >64 アンフォテリシン B ≤0.13 - 2

a：*T. rubrum*（42 株）、*T. mentagrophytes*（10 株）の計 52 株
b：BFE1224 として添加
c：*T. rubrum*（4 株）、*T. mentagrophytes*（4 株）、*T. tonsurans*（3 株）、及び *Trichophyton verrucosum*（2 株）の計 13 株
d：個々の MIC が同値の場合、数値の最後に株数を付記した。

表 2.4.2-1 効力を裏付ける試験の概要（in vitro 試験）（続き）

菌種、株	MIC (μg/mL) 又は試験成績	
	ホスラブコナゾール／ラブコナゾール	対照物質
作用機序		
エルゴステロール生合成阻害作用 (IC_{50}, nmol/L)		
C. albicans	ラブコナゾール 3.8	イトラコナゾール 5.3 フルコナゾール 11
Candida krusei	ラブコナゾール 11	イトラコナゾール 13 フルコナゾール 110

IC_{50}：50%阻害濃度

表 2.4.2-2 効力を裏付ける試験の概要（in vivo 試験）

モルモットを用いた *T. mentagrophytes* 皮膚真菌症モデルにおける有効性				
被験物質	投与期間	用量（mg/kg/日）	臨床症状改善率（%）	菌陰性化率（%）
ラブコナゾール	9 日	0（媒体対照）	―	―
		20	22.4	55.2
		30	16.5	75.8
		60	42.9	81.8
テルビナフィン		75	80.0	96.4
マウスを用いた *C. albicans* 全身感染症モデルにおける有効性				
被験物質	投与期間	用量（mg/kg/日）	生存動物数/設定動物数	生存率（%）
BFE1224[a]	3 日	0	0/10	0
		1.25	3/10	30*
		2.5	7/10	70*
		5	10/10	100*
フルコナゾール		1.25	4/10	40*
		2.5	7/10	70*
		5	9/10	90*
ボリコナゾール		2.5	1/10	10
		5	3/10	30*
		10	2/10	20*

a：ラブコナゾール量
*：$P<0.05$（媒体対照群に対する有意差、log-rank test followed by Dunnett type multiple comparison test）

2.4.2.1.1 In vitro 抗真菌活性

BFE1224 又は活性本体であるラブコナゾールの *Trichophyton* 属に対する抗真菌活性を、国内爪白癬患者由来臨床分離株、及び国内皮膚真菌症患者由来新鮮臨床分離株を用いて測定した。ラブコナゾールの *Trichophyton* 属の爪白癬患者由来臨床分離株に対する 90%の菌株の発育を阻止する最小薬物濃度（MIC_{90}）は 0.06 μg/mL であり、イトラコナゾール（MIC_{90}：0.06 μg/mL）と同程度の強い抗真菌活性を示した。一方、BFE1224 の MIC_{90} は、BFE1224 の遊離酸であるホスラブコナゾール濃度として 4 μg/mL であり、ラブコナゾールの 1/64 と明らかに弱かった。また、ラブコナゾールの *T. rubrum* 及び *T. mentagrophytes* の国内の皮膚真菌症患者由来新鮮臨床分離株に対する MIC_{90} はいずれも 0.06 μg/mL であり、イトラコナゾール（MIC_{90}：いずれも≤0.03 μg/mL）と同程度の強い抗真菌活性を示した。

ラブコナゾールの *Candida* 属真菌に対する抗真菌活性を、国内皮膚真菌症患者由来の臨床新鮮分離株を用いて測定した。ラブコナゾールは、*Candida* 属真菌に対してもイトラコナゾールと同程度の強い抗真菌活性を示した。

保存株を用いて各種病原真菌に対する抗菌スペクトルを確認した。ラブコナゾールは *Trichophyton* 属以外の皮膚糸状菌、*Aspergillus* 属を含むその他の糸状菌、黒色真菌等の幅広い真菌

に対しても抗真菌活性を示した。

2.4.2.1.2 作用機序

エルゴステロール生合成に対するラブコナゾールの阻害作用を、イトラコナゾール及びフルコナゾールと比較検討した。ラブコナゾールは、イトラコナゾールと同程度のエルゴステロール生合成阻害活性を示した。

2.4.2.1.3 In vivo 抗真菌活性

モルモットを用いた *T. mentagrophytes* 皮膚糸状菌症モデルにおいて、ラブコナゾールの経口投与により、感染局所の臨床症状の改善及び用量依存的な感染局所体毛の菌陰性化率の増加が認められた。また、マウスを用いた *C. albicans* の全身感染症モデルにおいて、BFE1224 の経口投与は高い延命効果を示した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

コレステロール生合成に対するラブコナゾールの阻害作用を、イトラコナゾールと比較検討した。ラブコナゾール及びイトラコナゾールは、濃度依存的にコレステロール産生を阻害し、50%阻害濃度（IC_{50}）はそれぞれ 0.36 及び 0.35 μmol/L と同程度の阻害作用を示した。

2.4.2.3 安全性薬理試験

In vivo 試験の BFE1224 及び [redacted] の投与量は、ホスラブコナゾール（遊離酸）量とした。

2.4.2.3.1 各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター、及び酵素に対する作用

ラブコナゾール及び [redacted] は、各種受容体、イオンチャネル、トランスポーターに対する作用及び酵素阻害作用を示さなかった。

2.4.2.3.2 中枢系に及ぼす影響

BFE1224 のラット静脈内投与において、80 mg/kg 投与群で一過性の直腸温の低下がみられたものの、その他の評価項目に変化はみられなかった。

2.4.2.3.3 心血管系に及ぼす影響

In vitro 電気生理学的試験において、[redacted] に、hERG（human ether-a-go-go related gene）チャネル、Ca チャネル、及び Na チャネル電流阻害作用は認められず、ウサギプルキンエ繊維の活動電位に対し 50%再分極時活動電位持続時間（APD_{50}）をわずかに短縮させた。一方、ラブコナゾールは hERG チャネル電流阻害作用を示したが、ウサギプルキンエ繊維の APD_{50} は短縮したものの、APD_{90} は短縮しなかった。ラット摘出心臓を用いた試験では、[redacted]、ラブコナゾール共に陰性変力作用及び陰性変時作用を示さなかった。イヌを用いた [redacted] の単回静脈内持続投与試験において、用量依存的で可逆的な心拍数上昇、100 mg/kg 投与で便の変化及び中等度の QT 間隔の変化（投与開始後 30 分間短縮、それ以降投与終了後 20 分まで延長）がみられた。

QT 間隔が一過性に延長したタイミングは、血漿中ラブコナゾール濃度と相関しており、最高血漿中濃度（C_{max}）は 41.0～63.5 μg/mL、また QT 間隔の変化がみられない 50 mg/kg 投与の C_{max} は 16.1～25.2 μg/mL であった。

2.4.2.3.4 呼吸系に及ぼす影響

BFE1224 のラット静脈内投与において、80 mg/kg までの用量でラットの呼吸器機能に影響しなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

該当なし。

2.4.3 薬物動態試験

BFE1224 は、ラブコナゾールのプロドラッグ（ホスラブコナゾール）のモノリシン塩にエタノールを付加した化合物であり、体内で速やかにラブコナゾールに代謝される。また、開発過程において検討された、[redacted] も BFE1224 と同様に体内で速やかにラブコナゾールに代謝される。本申請では、BFE1224 の動物における吸収、分布、代謝、及び排泄について検討し、一部の試験においてはラブコナゾールもしくは [redacted] を用いて検討した。ただし、[redacted] は、薬物動態試験においては全て遊離酸（ホスラブコナゾール）であるため、ホスラブコナゾールとして記載した。

In vivo では、ラット及びサルに、絶食又は非絶食条件下において投与化合物を経口又は静脈内投与した。また、in vitro においては、ヒトを含む各動物種の血漿タンパク結合及び血球移行性試験、凍結肝細胞を用いた薬物代謝及び薬物代謝酵素誘導試験、ヒト肝ミクロソームを用いた薬物代謝酵素阻害試験、さらにトランスポーターを発現させた細胞又はベシクルを用いた基質認識性並びに阻害試験を実施した。

2.4.3.1 分析法

標識体の ^{14}C-BFE1224、^{14}C-ラブコナゾール、又は ^{14}C-ホスラブコナゾールを用いて実施した in vitro 及び in vivo 試験においては、採取した試料中の放射能は、液体シンチレーションカウンター（LSC）、高速液体クロマトグラフィー/放射能検出装置（HPLC-RAD）、又は高速液体クロマトグラフィー/液体シンチレーションカウンター（HPLC-LSC）を用いて測定した。非標識体のホスラブコナゾール及びラブコナゾールの各試料中濃度の定量は液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析装置（LC/MS/MS）を、代謝物の構造解析は HPLC-RAD、液体クロマトグラフィー/質量分析装置（LC/MS）、LC/MS/MS、及び核磁気共鳴装置（NMR）を用いて実施した。一部の in vitro 代謝試験ではホスラブコナゾール及びラブコナゾールを高速液体クロマトグラフィー/紫外吸光度計（HPLC-UV）を用いて測定した。

2.4.3.2 吸収

ラット及びサルに BFE1224 を経口又は静脈内投与した時、生体内でラブコナゾールが速やかに

生成された。また、BFE1224 又はラブコナゾールを等モルの用量で静脈内投与したとき、ラブコナゾールの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）が両者で類似していたことから、BFE1224 の大部分がラブコナゾールに変換されることが示された。ラット及びサルに BFE1224 を経口投与した時にも生体内で同様に変換され、ラブコナゾールの経口バイオアベイラビリティ（F_{oral}）は、それぞれ 57.0%～92.9%及び 55.6%～93.0%と計算された。

ラットに BFE1224 を 15 mg/kg までの用量で静脈内投与したときのホスラブコナゾールの全身クリアランス（CL）は大きく、定常状態における分布容積（Vss）は小さかった。BFE1224 の静脈内投与後、ラブコナゾールの C_{max} は投与量 15 mg/kg まで用量比をわずかに上回る増加を示し、AUC は用量比以上の増加を示した。BFE1224 をラットに 15 mg/kg までの用量で経口投与したときも、ラブコナゾールの C_{max} は 15 mg/kg まで用量比をわずかに上回る増加を示し、AUC では用量比以上の増加を示した。

サルに BFE1224 を 15 mg/kg までの用量で静脈内投与したときのホスラブコナゾールの CL は大きく、Vss は小さかった。BFE1224 の静脈内投与後、ラブコナゾールの C_{max} 及び AUC はそれぞれ 15 mg/kg までほぼ用量に比例して増加した。また、サルに BFE1224 を 15 mg/kg までの用量で経口投与したときも、ラブコナゾールの C_{max} 及び AUC はそれぞれほぼ用量に比例して増加した。

雌雄ラットに ^{14}C-BFE1224 を 15 mg/kg の用量で単回経口又は静脈内投与したとき、血液中放射能濃度推移はいずれの投与経路でも雄ラットでは 3 相性、雌ラットでは 2 相性を示し、終末相の消失半減期（$t_{1/2}$）は 95～250 時間であった。雄サルに ^{14}C-BFE1224 を 15 mg/kg の用量で単回経口又は静脈内投与したとき、血漿中放射能濃度推移は 2 相性を示し、終末相の $t_{1/2}$ は 120 及び 130 時間であった。

2.4.3.3 分布

^{14}C-BFE1224 を経口又は静脈内投与後のラットでは、雌雄ともに副腎、肝臓、脂肪、及び褐色脂肪に比較的高濃度の放射能が認められた。雌ではさらに乳腺及び卵巣の放射能濃度が比較的高かった。雄ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口投与したとき、投与後 336 時間では全組織中で鉤爪の放射能濃度が最も高値であった。雄サルでは、経口又は静脈内投与後 336 時間における組織中放射能濃度は副腎が高く、続いて肝臓で高かった。

雄有色ラットでは ^{14}C-BFE1224 を経口投与後 112 日にも眼球に放射能が認められ、$t_{1/2}$ は 81 日であった。

In vitro におけるラブコナゾール（3～30 μg/mL）の血漿タンパク結合率は、ヒトでは 98.5%～99.0%であり、マウスでは 95.0%～95.4%、ラットでは 94.5%～95.0%、及びサルでは 98.3%～98.8%であった。

^{14}C-ラブコナゾールを用いてマウス、ラット、サル、及びヒトの in vitro 血球移行性を検討したところ、血液／血漿中濃度比（R_B）は、いずれの動物種でも薬物濃度に依存せずほぼ一定の値を示し、ヒトでは 0.529～0.532 であった。

妊娠ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口投与したとき、胎児に認められた主要放射能成分が母体血漿と同様にラブコナゾールだったことから、ラブコナゾールの胎盤通過が認められた。

2.4.3.4 代謝

ラットに ^{14}C-BFE1224 を 15 mg/kg 又は ^{14}C-ホスラブコナゾールを 80 mg/kg の用量で単回経口又は静脈内投与したとき、あるいはサルに ^{14}C-BFE1224 を 15 mg/kg の用量で単回経口又は静脈内投与したとき、^{14}C-BFE1224 あるいは ^{14}C-ホスラブコナゾールは速やかにその活性本体である ^{14}C-ラブコナゾールに変換された。

ラットにおけるラブコナゾールの推定代謝経路は、グルタチオン抱合、グルクロン酸抱合、チアゾールーベンゼン部分の水酸化及びそれに続く *O*-グルクロン酸抱合、トリアゾール部分の酸化的開裂及びそれに続く代謝、並びにチアゾールーベンゼン部分の酸化的開裂及びそれに続く代謝であった。

サルにおけるラブコナゾールの推定代謝経路は、トリアゾール部分の酸化的開裂及びそれに続くさらなる酸化及び／又はそのグルクロン酸抱合、*O*-グルクロン酸抱合、チアゾールーベンゼン部分の水酸化、並びにチアゾールーベンゼン部分の酸化的開裂及びそれに続く代謝であった。

^{14}C-ラブコナゾールのラット、サル、及びヒト由来の肝細胞を用いた比較代謝試験において、ラット、サル、及びヒトの代謝は類似しており、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。

ラブコナゾールはチトクローム P450（CYP）2C8、2C9、2C19、及び 3A（基質：テストステロン及びミダゾラム）を阻害し、IC_{50} は、それぞれ 2.69、1.51、7.49、2.28、及び 1.07 μmol/L であった。なお、CYP1A2、2B6、及び 2D6 は阻害しなかった（IC_{50} >10 μmol/L）。

ヒト凍結肝細胞（3 ドナー）を用い、ラブコナゾールによる CYP1A2、2B6、及び 3A4 のメッセンジャーRNA（mRNA）レベルでの誘導率（mRNA 増加率）を求め、陽性対照と比較した。ラブコナゾール濃度が 2 μmol/L の時、CYP1A2、2B6、及び 3A4 の平均誘導率はそれぞれ 3.49、2.71、及び 3.13 倍であったが、% positive control は平均値で 5.75%、24.0%、及び 30.4%であり、陽性対照と比べ軽度であった。

2.4.3.5 排泄

ラットでは胆汁を経由した糞中排泄が主要な排泄経路であり、^{14}C-BFE1224 を経口投与後 168 時間以内に放射能の 97.7%以上が排泄物（尿及び糞）中に回収された。また、サルでは、^{14}C-BFE1224 を経口又は静脈内投与した放射能の 95.0%以上が投与後 336 時間以内に排泄物中に回収され、放射能の尿中排泄率と糞中排泄率はほぼ同等であった。

授乳ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口投与したとき、母体血漿中濃度以上の放射能濃度が乳汁中に認められ、$AUC_{0-\infty}$比は血漿中の 8.39 倍となった。その主要構成成分がラブコナゾールであったことから、ラブコナゾールの乳汁排泄が認められた。

2.4.3.6 薬物動態学的相互作用

該当資料なし。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、P-糖タンパク質（P-gp）、及び乳癌耐性タンパク質（BCRP）におけるラブコナゾールの基質認識性を検討したところ、いずれのトラ

ンスポーターに対しても基質ではないことが示された。

各種トランスポーターに対するラブコナゾールの阻害作用を検討したところ、有機カチオントランスポーター（OCT）2 を介する取り込み、P-gp 及び BCRP を介する輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 2.80、7.12、及び 1.14 μmol/L であった。また有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、H^+/有機カチオン交換輸送体（MATE）1、MATE2-K、及び胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）を発現している細胞又はベシクルを用いた各典型基質の取り込みに対する阻害は認められなかった（IC_{50} >10 μmol/L）。

2.4.4 毒性試験

BFE1224 及び [redacted] の投与量は、ホスラブコナゾール（遊離酸）量とした。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

BFE1224 を用いた概略の致死量を求める単回投与毒性試験は実施せず、ラットについては反復投与毒性試験の用量設定に引用したラブコナゾール／[redacted] 単回投与試験、サルについては最大耐量（MTD）を求めるために実施した BFE1224 の漸増投与試験から情報を得た。経口投与では、ラットにおいて、ラブコナゾールの 900 mg/kg 投与群まで、[redacted] の 400 mg/kg 投与群まで死亡例は認められなかったことから、概略の致死量はラブコナゾールで 900 mg/kg 超、[redacted] で 400 mg/kg 超であった。サルにおいては、BFE1224 の 216 mg/kg 投与群まで死亡例は認められなかったことから、概略の致死量は 216 mg/kg 超であった。静脈内投与では、ラットにおいて [redacted] の 330 mg/kg 投与群の全例が死亡したことから、概略の致死量は 330 mg/kg であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

BFE1224 の反復投与毒性は、ラット及びサルを用いて評価した。各試験において、ホスラブコナゾール及びラブコナゾールの血漿中濃度を測定した。

2.4.4.2.1 ラットを用いた反復投与毒性試験

4、13、及び 26 週間反復経口投与毒性試験を実施した。

4 週間反復投与毒性試験は、20、60、及び 200 mg/kg/日の用量で実施し、無毒性量は雌雄共に 20 mg/kg/日であった。60 mg/kg/日投与群で副腎皮質細胞の空胞増加、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長、雄の 1 例で摂餌量の減少、雌で総コレステロールの増加も観察された。60 mg/kg/日以上の投与群で、肝臓重量の増加を伴う肝細胞肥大及び甲状腺濾胞細胞肥大が認められた。これらの変化は肝代謝酵素誘導に起因しアゾール系抗真菌薬の共通作用と判断された。

13 週間反復投与毒性試験は、10、30、100、及び 300 mg/kg/日の用量で実施し、無毒性量は雌雄共に 30 mg/kg/日であった。投与 3～11 日に 100 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例、300 mg/kg/日投与群の雄 8 例及び雌 4 例が死亡又は瀕死となった。100 mg/kg/日以上の投与群の生存例で、体重減少、体重増加抑制、及び摂餌量の減少、病理組織学的所見として、副腎及び卵巣間細胞に空胞増加が認められた。薬物代謝酵素誘導に起因する用量依存的な肝臓重量の増加や肝細胞肥大が観察され

た。肝臓における変化や一般状態の悪化に伴う二次的変化と考えられる、甲状腺濾胞細胞及び下垂体好塩基性細胞の肥大、プロトロンビン時間（PT）及び APTT の延長、血清中総タンパク、並びにグロブリン及び総コレステロールの増加がみられた。雄の 10 及び 30 mg/kg/日投与群で、酵素誘導に起因する適応性変化として肝臓重量の増加や肝細胞肥大が観察され、100 mg/kg/日以上の投与群で用量依存的な小葉中間性の肝細胞空胞化が観察された。これらの所見は 5 週間の回復期間後に完全に消失した。

26 週間反復投与毒性試験は、10、30、及び 60 mg/kg/日の用量で実施し、無毒性量は雌雄共に 10 mg/kg/日であった。雄の 10 mg/kg/日以上及び雌の 30 mg/kg/日以上の投与群で、肝代謝酵素誘導に起因した用量依存的な小葉中心性の肝細胞肥大がみられた。肝細胞肥大に伴い雄の 10 mg/kg/日以上の投与群で小葉中間性の肝細胞空胞化、雄の 60 mg/kg/日投与群で被膜下の肝細胞壊死、30 又は 60 mg/kg/日投与群で甲状腺濾胞細胞の肥大、APTT のわずかな延長、並びにアルブミン、グロブリン、及び総タンパクの増加、雄で PT のわずかな延長、雌で総コレステロールの増加がみられた。副腎では 30 mg/kg/日以上の投与群でアゾール系抗真菌薬の共通作用と考えられる皮質細胞のびまん性の空胞増加がみられた。雄の 60 mg/kg/日投与群で血清トリグリセリドの低下がみられた。

全てのラット反復投与毒性試験において、ホスラブコナゾールは速やかにラブコナゾールに変換され、ホスラブコナゾールはほとんどの測定時点で定量下限（50 ng/mL）未満であった。投与期間によらず、投与量依存的に血漿中ラブコナゾールは増加し、20 mg/kg/日以上の投与群で、反復投与により血漿中曝露は低下した。雌の血漿中ラブコナゾール曝露は、雄よりも高かった。

2.4.4.2.2 サルを用いた反復投与毒性試験

4、13、及び 39 週間反復経口投与毒性試験を実施した。投与量は全て 1、5、及び 30 mg/kg/日とした。

4 週間反復投与毒性試験の無毒性量は雌雄共に 5 mg/kg/日であった。30 mg/kg/日投与群で、雌雄ともに投与期間の中期から後期にかけて、口角の亀裂が観察され、病理組織学的検査において、限局的表皮過形成がみられたが、一般状態の悪化による二次的な変化と考えられた。雄の 5 mg/kg/日以上の投与群及び雌の 30 mg/kg/日投与群で、変性又は壊死を伴わない、肝臓重量増加を伴う肝細胞肥大が観察され、肝薬物代謝酵素誘導に起因した二次的な適応性変化と考えられた。さらに、30 mg/kg/日投与群では、雌雄ともに副腎皮質細胞のびまん性の空胞増加が、また雄で精巣の精細管上皮の変性が観察された。

13 週間反復投与毒性試験の無毒性量は雌雄共に 5 mg/kg/日であった。30 mg/kg/日投与群の雄 2 例で軟便、また雌雄ともに体重増加の抑制がみられた。30 mg/kg/日投与群の雌雄で、肝臓重量の増加を伴うびまん性の肝細胞肥大がみられ、肝薬物代謝酵素誘導による適応性変化と考えられた。また、副腎重量増加を伴う副腎皮質細胞のびまん性の空胞増加がみられた。これらの肝臓および副腎の変化はアゾール系抗真菌薬の共通作用と考えられた。雌雄ともに、口角に角化亢進及び潰瘍を伴う限局性表皮過形成がみられた。これらの病変は口角に限局しており、サル 4 週間反復経口投与試験でも同様の所見がみられた。6 週間の回復期間後、30 mg/kg/日投与群で副腎皮質細胞の空胞増加は引き続きみられたが、変化は束状帯内層に限局していたことから、回復過程である

ことが示唆された。肝臓及び口角の病理組織学的変化は完全に回復した。

39 週間反復投与毒性試験の無毒性量は雄は 5 mg/kg/日、雌は 1 mg/kg/日であった。30 mg/kg/日投与群の雄 1 例でわずかな体重減少がみられた。雄で血清トリグリセリドが上昇した。5 mg/kg/日以上投与群で、雌雄共に肝薬物代謝酵素誘導に起因する肝細胞肥大が観察された。雄の 30 mg/kg/日投与群及び雌の 5 mg/kg/日以上の投与群で、副腎皮質細胞のびまん性の空胞増加がみられたが、これはアゾール系抗真菌薬の共通作用と考えられた。

全てのサル反復投与毒性試験において、ホスラブコナゾールは速やかにラブコナゾールに変換され、ホスラブコナゾールは全測定時点で定量下限（50 ng/mL）未満であった。投与期間によらず、投与量依存的に血漿中ラブコナゾールは増加した。全投与群で 4 週間の反復経口投与により血漿中曝露は増加する傾向を示し、13 週間反復投与しても同程度の値で推移した。雄の 30 mg/kg/日投与群では、13 週間反復投与時の血漿中ラブコナゾールは 4 週間投与時と同程度だったが、39 週間反復投与時では 13 週投与時より増加する傾向を示した。サルにおいて血漿中ラブコナゾール曝露に性差はなかった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は、ラブコナゾール及び [redacted] による、ICH ガイドラインの標準的組み合わせ試験に加え、ラブコナゾールの標的部位である肝臓における不定期 DNA 合成（UDS）試験を用いて評価した。

細菌（ネズミチフス菌及び大腸菌）を用いた復帰突然変異試験では、ラブコナゾール及び [redacted] は、突然変異を誘発しなかった。ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験では、ラブコナゾールでは代謝非活性化条件下の細胞毒性が認められた濃度で、[redacted] では代謝活性化／非活性化条件下で染色体異常を誘発した。

ラットを用いた骨髄細胞の小核試験では、ラブコナゾールは 360 mg/kg/日までの用量で 2 週間、及び 750 mg/kg/日までの用量で 3 日間経口投与した 2 試験、[redacted] は 130 mg/kg/日までの用量で 3 日間静脈内投与した 1 試験を検討した。全ての試験において、ラブコナゾール又は [redacted] は骨髄細胞に対して染色体異常を誘発しなかった。

ラットを用いた肝 UDS 試験では、ラブコナゾールは 360 mg/kg/日までの用量で 2 週間反復経口投与又は、900 mg/kg までの用量で単回経口投与、[redacted] は 252 mg/kg までの用量で単回静脈内投与した。肝 UDS 試験においても、ラブコナゾール又は [redacted] は DNA 損傷を誘発しないと考えられた。

これらの結果から、ラブコナゾール及び BFE1224 に遺伝毒性はないと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

該当なし。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は、[redacted] を用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラブコナゾール、[redacted]、及び BFE1224 を用いた胚・胎児発生に関する試験、BFE1224 を

用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で評価した。また、BFE1224 を用いた試験においては、ホスラブコナゾール及びラブコナゾールの血漿中濃度を測定した。

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

[redacted] のラット静脈内投与試験を実施した。用量は 25、50、及び 100 mg/kg/日とし、雌雄の一般毒性に対する無毒性量は 25 mg/kg/日未満、雌雄の生殖機能及び初期胚発生に対する対する無毒性量は 100 mg/kg/日であった。100 mg/kg/日投与群の雌の 4 例が死亡又は瀕死し、全投与群で流涎ならびに口及び鼻周囲の汚れなどの生殖機能に影響を及ぼさない一般毒性が認められた。雄の交配及び受胎能、並びに交配した雌の出生児の初期胚発生に変化はみられなかった。雌では 100 mg/kg/日投与群で性周期に影響が認められたが、妊娠又は初期胚発生に影響は認められなかった。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットでは BFE1224 の経口投与試験、ウサギではラブコナゾールの経口投与試験及び [redacted] の静脈内投与試験を実施した。

BFE1224 のラット経口投与試験は、0.02、0.20、及び 20 mg/kg/日の用量で実施し、母動物の無毒性量は 20 mg/kg/日、胎児の骨格変異に対する無毒性量は 0.20 mg/kg/日であった。20 mg/kg/日投与群の胎児で、完全過剰肋骨、短小過剰肋骨及び頚肋の発生頻度増加が認められた。

ラブコナゾールのウサギ経口投与試験は、0.6、2.5、及び 10 mg/kg/日の用量で実施し、母動物に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/日であった。10 mg/kg/日投与群の母動物 1 例が妊娠 25 日に流産し、過剰肋骨（第 7 頸椎）がみられた胎児数のわずかな増加がみられた。

[redacted] のウサギ静脈内投与試験は、4、8、及び 16 mg/kg/日の用量で実施し、母動物に対する無毒性量は 8 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 4 mg/kg/日であった。16 mg/kg/日投与群の母動物の 1 例が瀕死となり、1 例が流産した。8 及び 16 mg/kg/日投与群で、胸骨分節骨化の軽微な変異（胸骨椎体の骨化遅延）、16 mg/kg/日投与群で胎児の体重減少、頚肋、頭蓋骨の骨化異常（縫合線の位置又は形状異常、早発鼻骨癒合、頭頂間骨の骨化遅延、及び舌骨の短縮又は未骨化）、及び肩甲骨の形状異常が観察された。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ラット経口投与試験を実施した。用量は 6、20、及び 80 mg/kg/日とし、F_0 母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 20 mg/kg/日、F_1 出生児の発生に対する無毒性量は 6 mg/kg/日、F_1 出生児の生殖機能及び F_2 胎児発生に対する無毒性量は 80 mg/kg/日であった。80 mg/kg/日投与群の F_0 母動物で、体重及び摂餌量の減少が認められた。80 mg/kg/日投与群の F_1 出生児で、死産数が増加し、出生児率及び生後 4 日生存率が低下した。また、生後 0～35 日の出生児の体重の減少がみられた。外表異常として、短尾、索状尾、及び鎖肛が観察された。20 mg/kg/日以上の投与群の F_1 出生児に眼球の変化が観察された。80 mg/kg/日投与群で出生後 19 日から眼球混濁が観察され、出生後 7 週時の眼科学的検査で水晶体混濁と確認された。水晶体混濁は、病理組織学検査で

水晶体核における一次水晶体線維の膨化と判断され、20 mg/kg/日以上の投与群でその頻度及び程度の増加がみられた。いずれの投与群においても F_0 母動物の分娩／哺育状態、F_1 出生児の行動、生殖機能に変化はみられなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験

該当なし。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 代謝物の毒性

BFE1224 の主な代謝物は活性本体であるラブコナゾールであり、プロドラッグ投与後速やかにラブコナゾールに代謝されることから、一連の毒性試験において、ラブコナゾールの安全性は確認されている。

2.4.4.7.2 不純物の毒性

BFE1224 の原薬に含まれる不純物のうち、安全性確認が必要な不純物 [redacted] 種について、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験で評価した。反復投与毒性試験で使用された原薬中の不純物量は、いずれも申請規格上限における 1 日摂取量を上回った用量で実施されていた。また、in silico 解析により、構造的なアラートを示さなかった。

2.4.4.7.3 光毒性試験

ニュートラルレッド取り込み（3T3 NRU）光毒性試験において、光毒性は認められなかった。

2.4.4.7.4 構成成分又は代謝物の毒性試験

ラットを用いた単回静脈内／経口投与毒性試験において、[redacted] の既知の構成成分又は代謝物（類縁物質A※、類縁物質B※、及び類縁物質C※）、ホスラブコナゾール 2Na 塩、及び [redacted]（2 ロット）の毒性を比較した。その結果、[redacted] で認められた毒性は、類縁物質A※、類縁物質B※、及び類縁物質C※起因するものではないと考えられた。

※：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

BFE1224 の活性本体であるラブコナゾールは、爪白癬の主要原因真菌である *T. rubrum* 及び *T. mentagrophytes* に対し、イトラコナゾールと同程度の強い抗真菌活性を示した（MIC_{90}：0.06 μg/mL）。一方、ラブコナゾールのプロドラッグであるホスラブコナゾールの抗真菌活性は、ラブコナゾールの 1/64 と明らかに弱く、ラブコナゾールに変換された後、効果を発揮すると考えられた。ラブコナゾールは爪カンジダ症の原因真菌に対してもイトラコナゾールとほぼ同程度の強い抗真菌活性を示した。ラブコナゾールの作用機序として、他のアゾール系抗真菌薬[3)]と同様に、エルゴステロール産生阻害作用が示され、二次的な作用として細胞膜傷害を引き起こすことで抗真菌作用を示すと考えられた。モルモットを用いた *T. mentagrophytes* 皮膚糸状菌症モデルにおいて、ラブコナゾールの経口投与により、感染局所の臨床症状の改善及び用量依存的な感染局所体毛の菌陰性化率の増加が認められた。また、マウスを用いた *C. albicans* 全身感染症モデルにおいて、BFE1224 の経口投与は高い延命効果を示した。BFE1224 の活性本体であるラブコナゾールは、爪白癬の主要原因菌である *T. rubrum* 及び *T. mentagrophytes* に対し、既存薬であるイトラコナゾールと同程度の強い抗真菌活性を有すること、また、2 種の in vivo 感染モデルにおいて、ラブコナゾール及び BFE1224 の経口投与はいずれも有効性を示したことから、BFE1224 は爪白癬に対し治療効果を発揮すると予想された。

副次的薬理試験において、コレステロール生合成阻害作用を検証したところ、ラブコナゾールにコレステロール生合成阻害作用がみられたが、イトラコナゾールと同程度であった。エルゴステロール合成阻害作用もイトラコナゾールと同程度であり、真菌ステロールに対する選択性は、イトラコナゾールと同様に高いと考えられた。

安全性薬理において、ラブコナゾール及び [redacted] は各種受容体、イオンチャネル、トランスポーターに対する作用及び酵素阻害作用を示さなかった。中枢に及ぼす影響は、BFE1224 のラット静脈内投与において、80 mg/kg 投与群で一過性の直腸温の低下がみられたものの、その他の項目に変化はみられなかった。心血管系に及ぼす影響は、in vitro 電気生理学的試験において、[redacted] は、hERG チャネル、Ca チャネル、及び Na チャネル電流阻害作用は認められず、ウサギプルキンエ繊維の活動電位に対し APD_{50} をわずかに短縮させた。一方、ラブコナゾールは hERG チャネル電流阻害作用が認められたが、ウサギプルキンエ繊維の APD_{50} は短縮したものの、APD_{90} は短縮しなかったことから、hERG チャネル電流阻害作用は、Ca チャネル阻害作用により相殺されたと考えられた。ラット摘出心臓を用いた試験では、[redacted]、ラブコナゾール共に陰性変力作用及び陰性変時作用を示さなかった。イヌを用いた [redacted] の単回静脈内持続投与試験において、用量依存的で可逆的な心拍上昇、100 mg/kg 投与で便の変化及び中等度の QT 間隔の変化（投与開始後 30 分間短縮、それ以降投与終了後 20 分まで延長）がみられた。QT 間隔が一過性に延長したタイミングは、血漿中ラブコナゾール濃度と相関しており、C_{max} は 41.0～63.5 μg/mL、また QT 間隔の変化がみられない 50 mg/kg 投与の C_{max} は 16.1～25.2 μg/mL であった。呼吸系に及ぼす影響は、BFE1224 のラット静脈内投与において、80 mg/kg までの用量でラットの呼吸器機能に影響しなかった。

2.4.5.2 薬物動態試験

ラット及びサルにBFE1224を単回静脈内投与したときのホスラブコナゾール及びラブコナゾールの薬物動態を検討した結果、ホスラブコナゾールは大部分が生体内で速やかに活性本体であるラブコナゾールに変換されることが明らかとなり、この速やかな加水分解にはアルカリホスファターゼが関与していると考えられた。BFE1224 を経口投与したときも吸収過程で速やかにラブコナゾールに変換され、ラブコナゾールの F_{oral} は、ラットで 57.0%～92.9%及びサルで 55.6%～93.0%であった。

雌雄ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口又は静脈内投与したとき、副腎、肝臓、脂肪、及び褐色脂肪に比較的高濃度の放射能が認められた。さらに、雌ラットでは、乳腺及び卵巣の放射能濃度が比較的高く、妊娠期及び授乳期の雌ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口投与したとき、ラブコナゾールの胎盤通過及び乳汁排泄が確認された。雄ラットに ^{14}C-BFE1224 を単回経口投与したとき、投与後 336 時間では全組織中で鉤爪の放射能濃度が最も高値であり、また雄有色ラットでは、ラブコナゾール又はその代謝物が眼組織のメラニンと結合することが示唆された。雄カニクイザルに ^{14}C-BFE1224 を単回経口又は静脈内投与したとき、投与後 336 時間の組織中放射能濃度では、副腎が最も高く続いて肝臓であったが、放射能分布率は、最も高い肝臓でも投与量の 0.06%（経口投与）及び 0.05%（静脈内投与）であり、^{14}C-BFE1224 に由来する放射能はほとんど残留していなかった。

ラットでは胆汁を経由した糞中排泄が主要な排泄経路であり、サルでは尿中排泄率と糞中排泄率がほぼ等しかった。

マウス、ラット、サル、及びヒトにおける、ラブコナゾールの in vitro 血漿タンパク結合率は、ヒトで最も高く 98.5%～99.0%であった。また、in vitro 血球移行性を検討したところ、血液／血漿中濃度比（R_B）は種毎にほぼ一定の値を示し、ヒトでは 0.529～0.532 であった。

ラブコナゾールは、リコンビナントヒト CYP を用いた in vitro 代謝試験において、CYP1A1、1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、及び 3A4 によっては代謝されなかった。また、ラット、サル、及びヒト凍結肝細胞を用いたラブコナゾールの代謝は類似しており、ヒトに特異的な代謝物は認められず、ヒト凍結肝細胞ではラブコナゾールの水酸化体のグルクロン酸抱合体やラブコナゾールのグルクロン酸抱合体などが検出された。

ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験においては、ラブコナゾールは、CYP2C8、2C9、2C19、及び 3A に対し阻害作用を示したが、CYP1A2、2B6、及び 2D6 は阻害しなかった。一方、CYP 誘導能については、ラブコナゾールは CYP1A2、2B6、及び 3A4 を誘導する可能性が示されたが、陽性対照と比べると軽度であった。

ラブコナゾールは OATP1B1、OATP1B3、P-gp、及び BCRP の基質ではないことが示された。また、OCT2、P-gp、及び BCRP 対して阻害作用を示したが、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、及び BSEP に対する阻害は認められなかった。

2.4.5.3 毒性試験

ラット及びサルを用いた BFE1224 の反復経口投与試験において、肝臓重量の増加及び肝細胞肥大が認められた。またラットにおいて、肝細胞肥大に伴い小葉中心性又は中間性の肝細胞空胞化

が認められたが、肝代謝酵素誘導による適応性変化と判断された。

またラットでは甲状腺濾胞細胞の肥大が認められた。ラットにおける甲状腺濾胞細胞肥大は多くの薬物で認められ、肝酵素誘導に伴う変化として知られていることから[4]、毒性学的意義は低いと判断された。

ラット及びサルで副腎皮質細胞の空胞増加が、またラットにおいて卵巣間細胞の空胞増加が認められ、アゾール系抗真菌薬の共通作用である P450 依存性ステロイド合成系酵素阻害作用[5]によるものと考えられた。

サル 4 週間反復経口投与試験の最高用量（30 mg/kg/日）で精巣の精細管上皮変性が認められたが、より長期の試験では認められなかったことから、精巣の変化は BFE1224 投与に起因する可能性は低いと判断された。また、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、[redacted] の静脈内投与により、雄の生殖機能、及び交配した雌の出生児の初期胚発生に変化も認められなかったことから、ヒトにおいて精巣に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

ラットにおいて、PT 及び APTT の延長、総タンパク、アルブミン、グロブリン、及び総コレステロールの増加、並びにトリグリセリドの変化（ラットで上昇、サルでは低下）が認められた。PT 及び APTT の延長や総タンパクの変化はフェノバルビタールの投与でも認められており[6]、肝代謝酵素誘導に伴う二次的な変化、総コレステロール及びトリグリセリドの変化は、P450 依存性ステロイド合成系酵素阻害作用に基づくと考えられた。

サル 4 及び 13 週間反復経口投与試験の 30 mg/kg/日投与群で、口角の限局的表皮過形成が認められたが、より長期の 39 週間反復投与では認められなかったことから、口角の変化は BFE1224 投与に起因する可能性を完全に否定することは困難であるが、長期投与により増悪する変化ではないと判断された。

ラット 13 週間反復経口投与試験において、5 週間の回復期間後に全ての所見は完全に回復した。サル 13 週間反復経口投与試験においては、6 週間の回復期間後に副腎以外の所見は完全に回復した。30 mg/kg/日投与群で副腎皮質細胞の空胞増加は継続してみられたものの、束状帯内層に限局してみられたことから、回復過程であると判断された。

ラット 26 週間及びサル 39 週間反復経口投与試験の無毒性量における、血漿中ラブコナゾールの安全域は、100 mg BFE1224 [redacted]ヒト単回投与試験（5.3.3.1.1、BFE1224-010）と比較したとき、C_{max} で 0.74～1.0 及び 0.14～0.74 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ で 0.081～0.23 及び 0.017～0.17 倍であった。しかし、無毒性量設定の根拠となった毒性所見である副腎皮質細胞の空胞増加は、軽微～軽度であり、可逆的な変化であった。また、ラット及びサルで認められた毒性所見は、他のアゾール系抗真菌薬でも認められており、安全域も BFE1224 と同様にない又は狭かった[7)、8)、9)]。

遺伝毒性試験においては、ラブコナゾール及び [redacted] の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験のうち、哺乳類細胞を用いた染色体異常試験において、ラブコナゾールは代謝非活性化条件下の細胞毒性が認められた濃度、[redacted] は代謝活性化／非活性化条件下で染色体異常を誘発した。しかしながら、細菌を用いた復帰突然変異試験で突然変異を誘発せず、ラットを用いた骨髄小核試験で染色体異常を誘発せず、肝臓の UDS 試験で DNA 損傷を誘発しなかったことから、ラブコナゾール及び BFE1224 に遺伝毒性はないと考えられた。

生殖毒性試験においては、ラットを用いた [redacted] の静脈内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雄の生殖機能に影響は認められず、雌では致死量で性周期に影響が認められたが、妊娠又は初期胚発生に影響は認められなかった。胚・胎児発生に関する試験では、BFE1224 のラット経口投与試験において、20 mg/kg/日投与群の胎児に骨格変異（過剰肋骨、頚肋）が認められた。ウサギでは、ラブコナゾールの経口投与試験において、10 mg/kg/日投与群の胎児に過剰肋骨（第 7 頸椎）のわずかな増加、また [redacted] の静脈内投与試験において、8 mg/kg/日投与群の胎児に骨格変異（胸骨椎体の骨化遅延）、並びに 16 mg/kg/日投与群で体重減少、頚肋、及び骨格異常（頭蓋骨の骨の異常、肩甲骨の形状異常）が認められた。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、BFE1224 のラット経口投与試験において、80 mg/kg/日投与群の F_1 出生児に死産数の増加、出生児率及び生後 4 日生存率の低下、体重減少、及び外表異常（短尾、索状尾、及び鎖肛）が認められたが、発育後の行動及び生殖機能に影響はみられなかった。また、20 mg/kg/日以上の投与群の F_1 出生児に水晶体混濁を示す例数の増加がみられ、病理組織学的検査で水晶体核における一次水晶体線維の膨化と判断された。二次水晶体線維形成に異常は認められなかったことから、水晶体混濁は胎生期に発生したものと考えられた。また、ラットでは類似の変化が背景病変として報告されており、自然発生性の病変が増加したものと考えられた。さらに、一般毒性試験において、ラット及びサル共に眼科学的検査及び眼の病理組織学的検査に異常はみられなかったことから、発育後の動物に対する影響はないと考えられた。

BFE1224 の原薬に含まれる不純物のうち、安全性確認が必要な不純物 [redacted] 種は、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験において、いずれも申請規格上限における 1 日摂取量を上回った用量で実施されていたことから、これらの不純物の安全性は確認されていると判断された。また、in silico 解析により、構造的なアラートを示さなかったことから、遺伝毒性の懸念はないと判断された。BFE1224 に光毒性は認められなかった。構成成分及び代謝物の毒性試験において認められた毒性は、類縁物質A※、類縁物質B※、及び類縁物質C※に起因するものではなく、ホスラブコナゾール又はラブコナゾールによるものと考えられた。

生殖発生毒性試験において、胎児の骨格異常及び胎児毒性（骨格変異及び水晶体混濁）が認められたが、発育後の動物に対する影響はないと考えられた。また薬物動態試験においてラブコナゾールの胎盤通過及び乳汁排泄が認められた。一方、一般毒性試験において重篤な毒性は認められず、遺伝毒性、光毒性も認められなかった。

※：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.6 参考文献

1） 阿部真也及び金子健彦. Chapter 1 爪白癬治療を始めるために必要な基礎知識. “爪白癬の疫学”及び“爪白癬の原因菌”. ファーマナビゲーター 爪白癬治療薬編. 常深祐一郎, 宮地良樹 編. メディカルレビュー社. 2016; 44-55.（添付資料番号 4.3-1）

2） Yamaguchi H. Potential of Ravuconazole and its Prodrugs as the New Oral Therapeutics for Onychomycosis. Med Mycol J. 2016; 57(4): E93-E110.（添付資料番号 4.3-2）

3） 北島康雄. 病原性真菌の構造構築と生化学的特性:細胞壁, 脂質と二形性, 抗真菌剤の作用点. 日本医真菌学会雑誌. 2000; 41(4): 211-217.（添付資料番号 4.3-3）

4） Capen CC. 第 21 章 内分泌系の毒性反応, 甲状腺（濾胞上皮細胞）, 肝臓ミクロソーム酵素の誘導. Casarett & Doull's Toxicoogy 6th ed. The Basic Science of Poisons キャサレット&ドールトキシコロジー. Klaassen CD 編. 仮家公夫 他 総監訳. サイエンティスト社. 2004; 832-835.（添付資料番号 4.3-4）

5） Van Cauteren H, Lampo A, Vandenberghe J, et al. Toxicological profile and safety evaluation of antifungal azole derivatives. Mycoses. 1989; 32 Suppl 1: 60-66.（添付資料番号 4.3-5）

6） Mochizuki M, Shimizu S, Kitazawa T, et al. Blood coagulation-related parameter changes in Sprague-Dawley (SD) rats treated with phenobarbital (PB) and PB plus vitamin K. J Toxicol Sci. 2008 Aug; 33(3): 307-314.（添付資料番号 4.3-6）

7） 独立行政法人医薬品医療機器総合機構：プロジフ静注液 100、同 200、同 400 審査報告書. 平成 15 年 8 月 21 日. p14-19.（添付資料番号 4.3-7）

8） 独立行政法人医薬品医療機器総合機構:ブイフェンド錠 50mg、同 200mg、ブイフェンド 200mg 静注用 審査報告書. 平成 17 年 2 月 16 日. p20-27.（添付資料番号 4.3-8）

9） 独立行政法人医薬品医療機器総合機構：イトリゾール内用液 1% 審査報告書. 平成 18 年 6 月 1 日. p13-15.（添付資料番号 4.3-9）